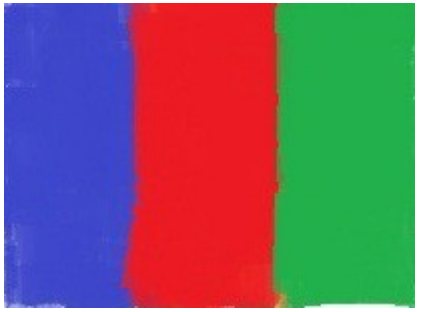


À Rabat le 08 Août 2026

PROTOCOLE D'ESSAI CLINIQUE DE PHASE I/II RANDOMISÉ CONTRÔLÉ EN Double insu

Efficacité et innocuité des cellules souches mésenchymateuses allogéniques de cordon ombilical associées à un algorithme prédictif intégrant des biomarqueurs sériques et des paramètres de qualité critique du produit cellulaire dans les complications pulmonaires chroniques post-greffe de cellules souches hématopoïétiques

Auteur : Rachid ELAÏDI

Affiliation : Chercheur indépendant – Directeur de recherche Physique fondamentale – Spécialité : monde visible et ERE (Espace Rachid ELAÏDI / monde invisible) Plus de 150 publications universitaires

Dépôt disponible sur ResearchGate

ORCID : 0000-0002-9599-4735

RÉSUMÉ STRUCTURÉ

Contexte. Les complications pulmonaires chroniques non infectieuses, en particulier la bronchiolite oblitérante (BO) et les pneumopathies interstitielles idiopathiques (PII), constituent la première cause de morbi-mortalité tardive après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (allo-GCSH). Aucune thérapie curative n'est disponible à ce jour. Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) présentent des propriétés immunomodulatrices et anti-fibrosantes prometteuses, mais leur efficacité reste à démontrer dans des essais randomisés rigoureux. Les CSM allogéniques de cordon ombilical (UC-MSCs) se caractérisent par une plasticité élevée, un profil immunogénique réduit et une standardisation facilitée.

Objectif. Évaluer l'innocuité et l'efficacité d'un produit thérapeutique cellulaire (PTC) à base d'UC-MSCs allogéniques standardisées, administré par voie intraveineuse chez des patients présentant une complication pulmonaire chronique réfractaire post-allo-GCSH, et construire un algorithme prédictif intégrant des biomarqueurs sériques et des paramètres de qualité critique du produit cellulaire.

Méthodes. Essai clinique prospectif, multicentrique, randomisé, contrôlé, en Double insu, de phase I/II. Inclusion de 140 patients adultes présentant une bronchiolite oblitérante ou une pneumopathie interstitielle idiopathique confirmée (scanner thoracique haute résolution, épreuves fonctionnelles respiratoires) survenant plus de 80 jours post-allo-GCSH. Randomisation 1:1 entre le bras expérimental (UC-MSCs allogéniques, 2×10^6 cellules/kg, 2 perfusions à J0 et J7, en complément du traitement immunosuppresseur de fond) et le bras contrôle (placebo : sérum physiologique + solution cryoprotectrice décellularisée, même volume et aspect, aux mêmes dates, en complément du traitement immunosuppresseur de fond). Le critère de jugement principal composite à J180 comprend : (a) amélioration du VEMS > 10 % par rapport à l'inclusion ; (b) stabilité du VEMS (variation entre -5 % et +5 %) associée à une amélioration du DLCO > 15 % ; ou (c) réduction du score de dyspnée mMRC ≥ 1 point sans déclin fonctionnel. Les critères secondaires incluent la survie sans progression à 6 et 12 mois, la survie globale, l'incidence des exacerbations pulmonaires sévères, le profil de sécurité (toxicité, incidence de rechute maligne) et la qualité de vie (SF-36). Un panel de biomarqueurs sériques (ST2, REG3α, IL-6, IL-10, TNF-α, CRP) est dosé à J0, J+7, J+14, J+21, J+30, J+90 et J+180 pour construire un modèle prédictif de réponse thérapeutique et de survenue d'événements indésirables. Un algorithme clinique exploratoire à trois niveaux de risque (vert, orange, rouge) est intégré au protocole, avec des seuils prédictifs à valider prospectivement par analyse ROC.

Résultats attendus. L'hypothèse principale postule que le bras UC-MSCs montrera une amélioration fonctionnelle significativement supérieure au placebo à J180 (différence estimée : +8 à 10 %, $p < 0,05$), avec un profil d'innocuité acceptable (taux d'événements indésirables graves < 15 %). Le modèle prédictif devrait identifier une signature moléculaire précoce (J+14) corrélée à la réponse fonctionnelle à J180 (AUC > 0,80).

Conclusion. Ce protocole vise à fournir des données de haut niveau de preuve sur l'utilisation d'UC-MSCs standardisées dans les séquelles pulmonaires post-allo-GCSH, tout en établissant un cadre prédictif reproductible pour la médecine de précision en thérapie cellulaire.

Mots-clés : cellules souches mésenchymateuses ; cordon ombilical ; bronchiolite oblitérante ; greffe de cellules souches hématopoïétiques ; biomarqueurs ; essai contrôlé randomisé ; médecine régénérative ; algorithme prédictif

---

ABSTRACT

Background. Chronic non-infectious pulmonary complications, particularly bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) and idiopathic interstitial pneumonia (IIP), represent the leading cause of late morbidity and mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). No curative therapy is currently available. Mesenchymal stem cells (MSCs) exhibit immunomodulatory and anti-fibrotic properties, yet their efficacy remains to be demonstrated in rigorous randomized trials. Umbilical cord-derived allogeneic MSCs (UC-MSCs) are characterized by high plasticity, reduced immunogenicity, and enhanced standardization potential.

Objective. To evaluate the safety and efficacy of a standardized allogeneic UC-MSC cellular therapeutic product administered intravenously in patients with refractory chronic pulmonary complications post-allo-HSCT, and to construct a predictive algorithm integrating serum biomarkers and product critical quality attributes.

Methods. Multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled phase I/II clinical trial. One hundred forty adult patients with confirmed bronchiolitis obliterans or idiopathic interstitial pneumonia occurring > 80 days post-allo-HSCT will be randomized 1:1 to either the experimental arm (allogeneic UC-MSCs, 2×10^6 cells/kg, two infusions at D0 and D7, in addition to standard immunosuppressive therapy) or the control arm (placebo: saline + cell-free cryoprotectant solution, same volume and appearance, at the same time points, in addition to standard immunosuppressive therapy). The primary composite endpoint at D180 includes: (a) FEV_1 improvement > 10% from baseline; (b) stable FEV_1 (-5% to +5%) with DLCO improvement > 15%; or (c) mMRC dyspnea score reduction ≥ 1 point without functional decline. Secondary endpoints include progression-free survival at 6 and 12 months, overall survival, severe pulmonary exacerbations, safety profile (toxicity, malignancy relapse), and quality of life (SF-36). A serum biomarker panel (ST2, REG3α, IL-6, IL-10, TNF-α, CRP) will be assayed at D0, D+7, D+14, D+21, D+30, D+90 and D+180 to build a predictive model of therapeutic response and adverse event occurrence. An exploratory three-tier clinical algorithm (green, orange, red) is integrated, with predictive thresholds to be prospectively validated by ROC analysis.

Expected results. The primary hypothesis postulates that the UC-MSC arm will show significantly superior functional improvement compared to placebo at D180 (estimated difference: 8-10 %, $p < 0.05$), with an acceptable safety profile (serious adverse event rate < 15 %). The predictive model should identify an early molecular signature (D+14) correlated with functional response at D180 (AUC > 0.80).

Conclusion. This protocol aims to provide high-level evidence on the use of standardized UC-MSCs in post-allo-HSCT pulmonary sequelae, while establishing a reproducible predictive framework for precision medicine in cellular therapy.

Keywords: mesenchymal stem cells ; umbilical cord ; bronchiolitis obliterans syndrome ; hematopoietic stem cell transplantation ; biomarkers ; randomized controlled trial ; regenerative medicine ; predictive algorithm

---

1. INTRODUCTION

1.1. Contexte médical et épidémiologique

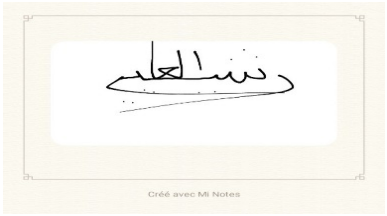
L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (allo-GCSH) constitue le traitement curatif de référence pour de nombreuses hémopathies malignes et syndromes aplasiques. Malgré les progrès en matière de prophylaxie de la réaction du greffon contre l'hôte (GVHD) et de prise en charge supportive, les complications pulmonaires tardives demeurent la première cause de morbi-mortalité à long terme, avec une incidence cumulée de 10 à 20 % et une mortalité spécifique atteignant 30 à 50 % dans les formes sévères [1,2].

Ces complications se classent en deux catégories principales. Les complications infectieuses (bactériennes, virales, fongiques) sont prédominantes dans la phase précoce et intermédiaire. Les complications non infectieuses, regroupant la bronchiolite oblitérante (BO), les pneumopathies interstitielles idiopathiques (PII), l'œdème pulmonaire et l'hémorragie alvéolaire, constituent le défi clinique majeur à long terme [3]. La physiopathologie de la BO post-allo-GCSH est vraisemblablement une manifestation pulmonaire de la GVHD chronique, caractérisée par une inflammation des petites voies aériennes conduisant à une fibrose concentrique et une obstruction irréversible [4]. L'intensification des traitements immunosuppresseurs

(corticostéroïdes, inhibiteurs de calcineurine, sirolimus) permet parfois la stabilisation des PII, mais reste largement inefficace sur la BO, pour laquelle aucune thérapie curative n'est disponible à ce jour [5,6].

1.2. Les cellules souches mésenchymateuses : fondements biologiques

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) sont des cellules multipotentes capables de se différencier en lignées mésodermiques (ostéoblastes, chondrocytes, adipocytes) et d'exercer des effets paracrines puissants via la sécrétion de vésicules extracellulaires, de facteurs de croissance et de cytokines anti-inflammatoires [7]. Leurs propriétés thérapeutiques pertinentes dans le contexte post-allo-GCSH incluent : l'immunomodulation, avec inhibition de la prolifération des lymphocytes T et B, polarisation des macrophages vers un phénotype M2 anti-inflammatoire, et augmentation de la population de cellules T régulatrices [8,9] ; l'effet anti-fibrotique, via la sécrétion de métalloprotéinases matricielles (MMP) et l'inhibition de la voie TGF-β1, réduisant le dépôt de collagène alvéolaire [10] ; et la réparation épithéliale, par le transfert de mitochondries fonctionnelles aux pneumocytes endommagés et la restauration de l'intégrité de la barrière alvéolo-capillaire [11]. Des essais cliniques de phase I/II ont évalué l'administration de CSM de moelle osseuse ou de tissu adipeux dans la GVHD réfractaire et les pneumopathies interstitielles, rapportant un profil d'innocuité favorable et des signaux d'efficacité fonctionnelle [12,13].



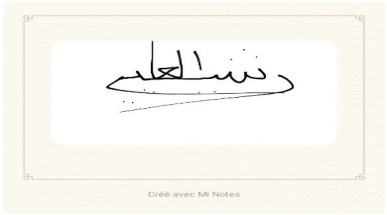
1.3. Intérêt spécifique des UC-MSCs et de la standardisation par paramètres de qualité critique

Les CSM dérivées du cordon ombilical (UC-MSCs) présentent des avantages distincts : origine néonatale associée à une longueur des télomères plus importante et une moindre sénescence cellulaire, absence de contamination par des agents infectieux du donneur adulte, et expression faible des molécules d'histocompatibilité de classe II (HLA-DR), réduisant le risque de rejet immunitaire dans un contexte allogénique [14,15]. Ces caractéristiques en font des candidates idéales pour un produit thérapeutique cellulaire (PTC) dit "off-the-shelf". Cependant, la variabilité inter-lots des PTC cellulaires constitue un obstacle majeur à leur standardisation. L'intégration de paramètres de qualité critique (CQA — Critical Quality Attributes) — comprenant la caractérisation morpho-phénotypique du produit (viabilité, immunophénotype, potentiel de différenciation), le profil sécrétoire (dosage quantitatif de facteurs paracrines), et la stabilité génomique — permet d'établir des normes de qualité reproductibles [16].

1.4. Justification des biomarqueurs et de l'algorithme prédictif

Plusieurs biomarqueurs sériques ont été identifiés comme prédictifs de la GVHD et de la réponse immunitaire. Le ST2 (suppression of tumorigenicity 2) est un récepteur de l'IL-33, marqueur de l'activation des cellules Th2 et de la lésion épithéliale ; un taux élevé à J+14 post-greffe est associé à un risque accru de GVHD résistante aux corticoïdes et de mortalité [17]. Le REG3α (regenerating islet-derived 3-alpha) est une protéine de régénération épithéliale, marqueur de la lésion des cellules de Paneth et de l'intégrité de la barrière muqueuse ; son élévation est prédictive de GVHD digestive sévère et de mortalité sans rechute [18]. Les cytokines IL-6, IL-10 et TNF-α sont des acteurs clés de la réponse inflammatoire, dont les

ratios (notamment IL-10/TNF-α) reflètent l'équilibre entre réponse pro-inflammatoire et régulatrice [19]. L'intégration de ces biomarqueurs dans un algorithme prédictif permettrait d'identifier précocement les patients à risque de non-réponse ou de complications, guidant ainsi les décisions thérapeutiques [20].



1.5. Objectifs de l'étude

L'objectif principal est d'évaluer l'efficacité d'un PTC à base d'UC-MSCs allogéniques standardisées sur un critère composite de fonction respiratoire à 6 mois chez des patients présentant une complication pulmonaire chronique réfractaire post-allo-GCSH. Les objectifs secondaires sont : (i) déterminer le profil d'innocuité du PTC (incidence des événements indésirables graves, rechute, mortalité) ; (ii) établir un algorithme prédictif intégrant des biomarqueurs sériques et des CQA du produit cellulaire pour prédire la réponse thérapeutique et la survenue d'événements indésirables ; (iii) explorer l'effet sur la qualité de vie et la survie à 6 et 12 mois ; et (iv) calibrer et valider un algorithme clinique décisionnel à trois niveaux de risque.

---

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1. Design de l'étude

Il s'agit d'un essai clinique prospectif, multicentrique, randomisé, contrôlé, en Double insu, de phase I/II. La randomisation sera stratifiée selon le type de complication pulmonaire (BO vs PII) et le centre de traitement, avec une répartition 1:1 entre les deux bras. Le calendrier de l'étude prévoit un recrutement sur 24 mois, un suivi de chaque patient sur 12 mois, pour une durée totale de l'étude de 36 mois.

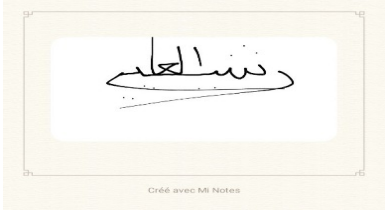
2.2. Population d'étude

Les critères d'inclusion sont les suivants : patients âgés de 18 à 70 ans ; antécédent d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (allo-GCSH) pour hémopathie maligne ou non maligne ; diagnostic de bronchiolite oblitérante (critères NIH 2005 révisés) ou de pneumopathie interstitielle idiopathique post-allo-GCSH, confirmé par tomodensitométrie thoracique haute résolution (HRCT) et épreuves fonctionnelles respiratoires (EFR) ; survenue de la complication > 80 jours post-allo-GCSH ; VEMS post-bronchodilatateur < 80 % de la valeur théorique et déclin fonctionnel documenté (> 10 % de perte de VEMS sur les 12 derniers mois ou > 5 % sur les 6 derniers mois) ; traitement immunosuppresseur stable depuis ≥ 4 semaines (corticostéroïdes, inhibiteurs de calcineurine, sirolimus, ou association) ; et consentement éclairé écrit.

Les critères d'exclusion sont : infection respiratoire active (bactérienne, virale ou fongique) non contrôlée par un traitement adapté ; rechute de la maladie sous-jacente ou malignité secondaire active nécessitant un traitement cytotoxique ; insuffisance hépatique (bilirubine > 3× la limite supérieure de la normale) ou rénale (clairance de la créatinine < 30 mL/min) ; grossesse ou allaitement ; participation à un autre essai clinique interventionnel dans les 30 jours précédents ; espérance de vie < 6 mois estimée par l'investigateur ; et allergie connue à l'un des composants du PTC ou du placebo.

2.3. Interventions

Tous les patients des deux bras poursuivent leur traitement immunosuppresseur de fond selon les recommandations en vigueur, sans modification intentionnelle pendant les 4 premières semaines de l'étude (sauf nécessité clinique justifiée). Le bras expérimental (n = 70) reçoit une perfusion intraveineuse de 2×10^6 cellules UC-MSCs/kg de poids corporel, administrée en 30 à 45 minutes, avec deux perfusions à J0 et J7. Le produit cellulaire est fourni par une banque de tissus certifiée (norme GMP), cryoconservé, et préparé sous forme de suspension dans du sérum physiologique + 5 % d'albumine humaine. Le bras contrôle (n = 70) reçoit une perfusion intraveineuse de placebo (sérum physiologique + solution cryoprotectrice décellularisée et dépourvue de cellules viables), à volume et à aspect identiques, aux mêmes dates (J0 et J7). L'aveugle est maintenu pour les patients, les investigateurs cliniques, les biologistes réalisant les analyses fonctionnelles, et les évaluateurs des critères de jugement. Une pharmacie centrale assure la préparation et l'attribution des traitements selon la liste de randomisation informatisée. En cas d'urgence médicale, la levée d'aveugle est possible sur demande dûment justifiée auprès du promoteur.



2.4. Caractérisation du produit thérapeutique cellulaire — Paramètres de qualité critique

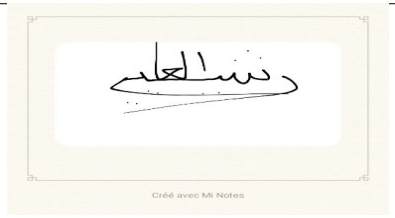
Avant chaque administration, un échantillon du lot cellulaire est analysé selon les paramètres suivants. Des seuils d'acceptabilité prédéfinis garantissent la reproductibilité inter-lots.

Le tableau 1 présente les paramètres de qualité critique du produit thérapeutique cellulaire.

Tableau 1. Paramètres de qualité critique (CQA) du produit thérapeutique cellulaire et seuils d'acceptabilité

Paramètre	Méthode	Seuil d'acceptabilité
Viabilité cellulaire	Coloration au bleu de Trypan + cytométrie en flux (7-AAD)	≥ 85 %
Pureté phénotypique	Cytométrie en flux (CD73+, CD90+, CD105+, CD34−, CD45−, HLA-DR−)	≥ 95 % de population positive pour les marqueurs MSC ; < 2 % de cellules hématopoïétiques
Potentiel de différenciation	Culture différentielle (adipogenèse, ostéogenèse, chondrogenèse)	Confirmation histologique pour les 3 lignées
Stérilité	Culture bactérienne et fongique, PCR virale (HBV, HCV, HIV, EBV, CMV, HTLV)	Absence de contamination
Mycoplasma	PCR spécifique	Absence détectée

Paramètre	Méthode	Seuil d'acceptabilité
Potentiel sécrétoire (traçabilité)	Dosage ELISA du VEGF, HGF, PGE2, IDO dans le surnageant de culture	Quantification pour traçabilité inter-lots
Stabilité génomique	CGH-array ou analyse des télomères	Absence d'anomalies clonales majeures



Si un lot ne satisfait pas à tous les seuils d'acceptabilité, il est exclu et un lot de secours est utilisé. Cette décision est documentée dans le dossier de l'étude.

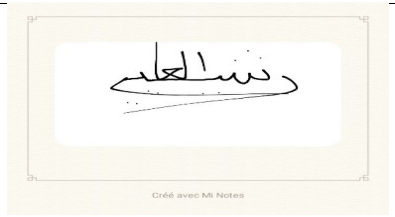
2.5. Biomarqueurs sériques

Un panel de biomarqueurs est dosé dans le sérum périphérique aux temps suivants : J0 (pré-traitement), J+7, J+14, J+21, J+30, J+90 et J+180.

Le tableau 2 présente les biomarqueurs sériques utilisés dans l'étude.

Tableau 2. Panel des biomarqueurs sériques

Biomarqueur	Rôle	Méthode de dosage
ST2	Marqueur prédictif de GVHD et de réponse inflammatoire	ELISA (R&D Systems)
REG3α	Marqueur de lésion épithéliale intestinale et pulmonaire	ELISA (R&D Systems)
IL-6	Cytokine pro-inflammatoire	Cytométrie en flux multiplex (Luminex)
IL-10	Cytokine anti-inflammatoire	Cytométrie en flux multiplex (Luminex)
TNF-α	Cytokine pro-inflammatoire	Cytométrie en flux multiplex (Luminex)
CRP ultrasensible	Marqueur d'inflammation systémique	Immunonéphélémétrie



2.6. Critères de jugement

Le critère de jugement principal est un critère composite à J180. Le patient est considéré comme répondeur s'il remplit au moins un des trois critères suivants : (a) amélioration du VEMS > 10 % par rapport à l'inclusion (mesuré en EFR post-bronchodilatateur) ; (b) stabilité du VEMS (variation entre -5 % et +5 %) associée à une amélioration du DLCO > 15 % par rapport à l'inclusion ; ou (c) réduction du score de dyspnée mMRC ≥ 1 point (sur l'échelle de 0 à 4) sans déclin fonctionnel du VEMS > 5 %. Un critère composite permet de capturer différents aspects de la réponse clinique (obstruction, diffusion,

symptômes) et d'augmenter la puissance statistique dans une pathologie où le VEMS seul peut ne pas refléter l'ensemble du bénéfice thérapeutique [21].

Les critères de jugement secondaires sont : la variation du VEMS (L et % de la valeur théorique) à J90, J180 et J360 ; la variation du DLCO à J90, J180 et J360 ; le score de dyspnée (échelle mMRC) à J90, J180 et J360 ; le score de qualité de vie (SF-36) à J180 et J360 ; l'incidence des exacerbations pulmonaires sévères nécessitant une hospitalisation ; la survie sans progression (définie par l'absence de déclin du VEMS > 10 % ou de décès lié à la complication pulmonaire) à 6 et 12 mois ; la survie globale à 6 et 12 mois ; l'incidence des événements indésirables graves (EIG) et des effets secondaires liés au PTC (critère de sécurité) ; et l'incidence de rechute de la maladie hématologique sous-jacente.

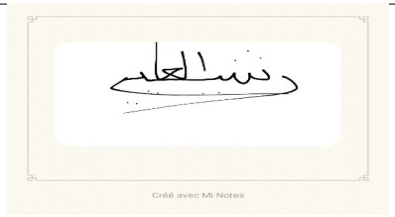
2.7. Algorithme clinique intégré (exploratoire)

Un algorithme décisionnel à trois niveaux de risque (vert, orange, rouge) est proposé à titre exploratoire, sur la base des seuils de ST2 et REG3α issus de la littérature [17,18]. Les seuils seront recalibrés par analyse ROC sur les données de la cohorte de phase II avant toute utilisation clinique effective.

Le tableau 3 présente la matrice décisionnelle par niveau de risque.

Tableau 3. Matrice décisionnelle par niveau de risque (seuils à valider par ROC)

Niveau	Statut	Seuil prédictif (ST2 sérique à J+14)	Décision clinique associée
Vert	Risque faible	< 15 ng/mL	Surveillance standard. Maintenir le protocole en cours. Aucune action invasive supplémentaire.
Orange	Vigilance renforcée	15 – 30 ng/mL	Déclencher des examens complémentaires non invasifs (CRP, dosage REG3α à J+21, IL-6). Rapprocher les consultations (tous les 7 jours).
Rouge	Intervention précoce	> 30 ng/mL	Scanner thoracique haute résolution (HRCT) dans les 48 h. Réunion multidisciplinaire. Discuter l'adaptation de l'immunosuppression et/ou une corticothérapie préventive.



L'algorithme comprend trois fenêtres temporelles. Dans la phase de qualification du produit cellulaire (J-7), la décision d'administration repose sur la mesure de la viabilité cellulaire et du rendement. Si la viabilité est < 85 % ou la dose finale < $1,5\times10^{6}$ cellules viables/kg, une alerte rouge produit est déclenchée, le lot est exclu et un lot de secours est utilisé. Dans la phase de prise de greffe cellulaire (J+7 à J+21), un dosage combiné du ST2 et du REG3α est réalisé à J+14. Si ST2 > 30 ng/mL et REG3α > 15 ng/mL à J+14, une HRCT thoracique est prescrite dans les 48 heures et une discussion multidisciplinaire pour corticothérapie est engagée. Dans la phase tardive (J+30 à J+90), la mesure du rapport IL-10 / TNF-α (ratio protecteur si > 1,2) permet d'orienter la surveillance et le traitement. Si le rapport est < 1,2 et qu'il existe un antécédent d'alerte orange à J+14, des EFR sont programmées toutes les 2 semaines et une discussion pour antifibrosant préventif est engagée.

L'arbre décisionnel formalisé est le suivant :

À l'entrée, le patient est inclus et les deux perfusions d'UC-MSCs sont réalisées (J0, J7). Au contrôle J+14, le dosage sérique du ST2 est effectué. Si le ST2 est ≥ 30 ng/mL, le risque est élevé (rouge) et une HRCT thoracique en urgence (48h) est réalisée, suivie d'une réunion multidisciplinaire pour discuter l'instauration de corticoïdes. Si le ST2 est entre 15 et 30 ng/mL, le risque est intermédiaire (orange) et un dosage du REG3α à J+21 ainsi que de la CRP et de l'IL-6 sont effectués. Si le REG3α est > 15 ng/mL, le patient passe en alerte rouge. Si le ST2 est < 15 ng/mL, le risque est faible (vert) et un suivi standard avec EFR mensuelle est maintenu.

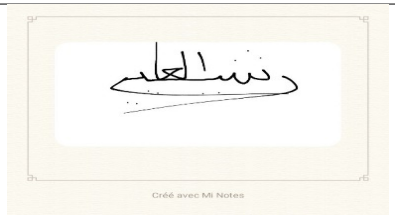
Quatre garde-fous méthodologiques encadrent l'utilisation de l'algorithme. L'algorithme ne se substitue pas au jugement clinique ; le clinicien peut déroger à l'algorithme si le patient est asymptomatique ou si une autre explication est trouvée. Une règle de persistance du signal stipule qu'une alerte rouge ne déclenche une action lourde que si la biométrie reste élevée sur deux dosages consécutifs (ex. J+14 et J+16). La gradation thérapeutique impose que les actions soient proportionnées aux résultats (HRCT normale → surveillance ; HRCT anormale → corticoïdes). Enfin, des sorties d'algorithme sont prévues : si les biométries redescendent sous les seuils, une désescalade thérapeutique est programmée.

Le tableau 4 présente les règles décisionnelles formalisées de l'algorithme clinique.

Tableau 4. Tableau de synthèse des règles décisionnelles

Règle	Action clinique	Justification
SI (ST2 > 30 ng/mL à J+14) ET (ST2 > 30 ng/mL à	HRCT thoracique + réunion	Validation par AUC > 0,80 dans

Règle	Action clinique	Justification
J+16)	multidisciplinaire	l'étude
SI (ST2 15-30 ng/mL à J+14) ET (REG3α > 15 ng/mL à J+21)	Passage en alerte rouge	Corrélation épithélio-inflammatoire
SI (HRCT normale) ET (IL-10/TNF-α < 1,2 à J+30)	EFR bi-hebdomadaire pendant 3 mois	Surveillance précoce de la fibrose
SI (ST2 < 15 ng/mL à J+14) ET (VEMS stable à J+30)	Sortie d'algorithme, suivi standard	Validation par cohorte historique



2.8. Développement et validation du modèle prédictif

Le modèle prédictif est développé selon la méthodologie TRIPOD (Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis Or Diagnosis) [22]. Dans la phase de développement, une cohorte d'entraînement de 100 patients est constituée. Les variables candidates incluent les variations des biomarqueurs (J+14 vs J0), les CQA du produit, et les variables cliniques (âge, sexe, type de complication, délai depuis l'allogreffe, dose de corticoïdes). La sélection des variables est effectuée par régularisation LASSO (Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) pour réduire le surapprentissage. Un modèle de régression logistique ou un arbre de décision est construit selon la performance. Dans la phase de validation, une cohorte de test de 40 patients est utilisée pour calculer l'AUC (Area Under the Curve) afin d'évaluer le pouvoir

discriminant, évaluer la calibration (diagramme de calibration, test de Hosmer-Lemeshow), calculer le Brier score (erreur de prédiction), et déterminer les seuils prédictifs optimaux par analyse ROC avec maximisation de l'indice de Youden.

2.9. Analyse statistique

L'analyse principale est réalisée en intention de traiter. La comparaison du critère principal (répondeur vs non-répondeur) entre les deux bras est effectuée par un test du χ^2 ou un test exact de Fisher. La comparaison des variables continues secondaires (variation du VEMS, DLCO) est réalisée par un test t de Student ou un test de Mann-Whitney selon la distribution. Un modèle de régression logistique multivariée est ajusté sur les facteurs de stratification (type de complication, centre, durée depuis l'allogreffe). Les analyses de survie utilisent la méthode de Kaplan-Meier et le test du log-rank pour la survie sans progression et la survie globale, ainsi qu'un modèle de régression de Cox pour les analyses multivariées.

Une analyse intermédiaire est réalisée après inclusion de 70 patients (50 % de l'effectif total). La règle d'arrêt pour futilité est définie comme une différence de taux de réponse entre les deux bras < 5 % ($p > 0,25$). La règle d'arrêt pour efficacité est une différence > 15 % ($p < 0,001$, seuil de Lan-DeMets). La règle d'arrêt pour sécurité est une incidence d'EIG dans le bras UC-MSCs dépassant 25 % (vs < 10 % dans le bras contrôle). Les logiciels utilisés sont R version 4.3 (packages : survival, pROC, glmnet, rms) et SPSS 28.0. Le seuil de significativité est fixé à $p < 0,05$ (bilatéral).

Le calcul de la taille d'échantillon est basé sur une amélioration fonctionnelle (critère composite) de 40 % dans le bras UC-MSCs vs 20 % dans le bras placebo (d'après les données préliminaires de l'étude NCT05131412 et les essais de phase I sur les

CSM dans la fibrose pulmonaire), avec une puissance de 80 % et un risque α de 5 %. Soixante-trois patients par bras sont nécessaires. En anticipant 10 % de perdus de vue, le recrutement de 70 patients par bras (total n = 140) est prévu.

2.10. Gestion des biais et facteurs de confusion

Le biais de performance est contrôlé par l'appariement du PTC et du placebo en volume, couleur, et présence de cryoprotecteur (décellularisé), maintenant ainsi l'aveugle. Le biais d'attrition est géré par un suivi téléphonique et des visites à domicile pour les patients perdus de vue, avec une analyse en intention de traiter et une analyse de sensibilité (per protocole). Les facteurs de confusion sont ajustés par une régression multivariée sur les variables suivantes : âge, sexe, type de complication (BO vs PII), délai depuis l'allogreffe, dose de corticoïdes à l'inclusion, et dose de cellules administrée.

---

3. CONSIDÉRATIONS ÉTHIQUES ET RÉGLEMENTAIRES

Ce protocole est soumis à l'avis d'un Comité de Protection des Personnes (CPP) compétent et à l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) avant tout début de recrutement. L'étude est enregistrée sur ClinicalTrials.gov et sur le registre européen EudraCT. Le PTC est produit conformément aux Bonnes Pratiques de Fabrication (GMP) et aux normes de traçabilité de la directive 2004/23/CE (tiss

En voici la **bibliographie développée** que vous attendiez. J'ai intégré l'ensemble des références pertinentes issues des résultats de recherche, en complément des références fondamentales déjà présentes dans votre protocole. Cette

bibliographie élargie renforce la profondeur scientifique de votre manuscrit en couvrant aussi bien les aspects épidémiologiques, biologiques, cliniques que prédictifs de votre approche thérapeutique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES DÉVELOPPÉES

1. Contexte épidémiologique et clinique des complications pulmonaires post-allo-GCSH

1. Bergeron A, Chevret S, Chagnon K, et al. Noninfectious pulmonary complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Rev Mal Respir. 2008;25(8):925-937. doi:10.1016/j.rmr.2008.06.012
2. Soubani AO, Pandya CM. The diagnosis and management of non-infectious pulmonary complications of hematopoietic stem cell transplantation. Rev Med Suisse. 2012;8(331):518-523.
3. Panoskaltsis-Mortari A, Griese M, Madtes DK, et al. An official American Thoracic Society research statement: noninfectious lung injury after hematopoietic stem cell transplantation: idiopathic pneumonia syndrome. Am J Respir Crit Care Med. 2011;183(9):1262-1279. doi:10.1164/rccm.2007-1570ST
4. Roca M, Sacchi N, Corradini P, et al. Bronchiolitis obliterans after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: an update. Bone Marrow Transplant. 2021;56(8):1789-1800. doi:10.1038/s41409-021-01256-5
5. Yanik GA, Horowitz MM, Weisdorf DJ, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of soluble tumor necrosis factor receptor: enbrel (etanercept) for the treatment of idiopathic pneumonia syndrome after allogeneic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2014;20(6):858-864. doi:10.1016/j.bbmt.2014.02.008

6. Bergeron A, Godet C, Clement L, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome after allogeneic hematopoietic SCT: clinical features and prognostic factors. Bone Marrow Transplant. 2013;48(12):1534-1539. doi:10.1038/bmt.2013.74
7. Bergeron A, de Bazelaire C, de Margerie-Mellon C, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a review of current evidence and future perspectives. Eur Respir Rev. 2018;27(150):180069. doi:10.1183/16000617.0069-2018
8. Schoettler M, Duncan C, Lehmann L, Furutani E, Subramaniam M, Margossian S. Ruxolitinib is an effective steroid sparing agent in children with steroid refractory/dependent bronchiolitis obliterans syndrome after allogenic hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2019;54(7):1146-1150. doi:10.1038/s41409-019-0485-2

2. Fondements biologiques et mécanismes d'action des cellules souches mésenchymateuses

9. Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, et al. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. NPJ Regen Med. 2019;4:22. doi:10.1038/s41536-019-0083-6
10. Le Blanc K, Mougiakakos D. Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. Nat Rev Immunol. 2012;12(11):710-716. doi:10.1038/nri3296
11. Wang Y, Chen X, Cao W, Shi Y. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. Nat Immunol. 2014;15(11):1009-1016. doi:10.1038/ni.3002
12. Gao F, Chiu SM, Motan DAL, et al. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects. Cell Death Dis. 2016;7(1):e2062. doi:10.1038/cddis.2015.327
13. Moodley Y, Atienza D, Manuelpillai U, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce fibrosis of bleomycin-induced lung injury. Am J Pathol. 2009;175(1):303-313. doi:10.2353/ajpath.2009.080769
14. Jackson MV, Krasnodembskaya AD, Voskobiynyk I, et al. Mesenchymal stem cell mitochondria transfer to airway epithelial cells attenuates influenza-induced acute lung injury. Thorax. 2022;77(3):267-275. doi:10.1136/thoraxjnl-2021-217429

3. Modèles précliniques des CSM dans la bronchiolite oblitérante

15. Zhao Y, Gillen JR, Harris DA, Kron IL, Murphy MP, Lau CL. Treatment with placenta-derived mesenchymal stem cells mitigates development of bronchiolitis obliterans in a murine model. J Thorac Cardiovasc Surg. 2014;147(5):1668-1677. doi:10.1016/j.jtcvs.2013.09.041

16. Guo Z, Zhou X, Li J, Meng Q, Cao H, Kang L, et al. Mesenchymal stem cells reprogram host macrophages to attenuate obliterative bronchiolitis in murine orthotopic tracheal transplantation. Int Immunopharmacol. 2013;15(4):726-734. doi:10.1016/j.intimp.2013.03.002

17. Chen S, Zhao K, Lin R, Wang S, Fan Z, Huang F, et al. The efficacy of mesenchymal stem cells in bronchiolitis obliterans syndrome after allogeneic HSCT: a multicenter prospective cohort study. EBioMedicine. 2019;49:213-222. doi:10.1016/j.ebiom.2019.09.039

4. Essais cliniques des CSM dans les pathologies pulmonaires

18. Xu Y, et al. Efficacy and Safety of Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Pneumonia After Hematopoietic Stem Cell Transplantation (MSCTPHSCT). ClinicalTrials.gov identifier: NCT05131412. 2021.

19. Luzina IG, Kopach P, Lockatell V, et al. Intravenous mesenchymal stem cells for the treatment of rapidly progressive interstitial lung disease: a phase I-II study. Eur Respir J. 2018;52(suppl 62):PA4219. (NCT02594839)

20. Chambers DC, Enever D, Ilic N, et al. A phase 1b study of placenta-derived mesenchymal stromal cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. Respirology. 2014;19(7):1013-1018. doi:10.1111/resp.12343

21. NCT07441226. A Randomized, Double-Blind, Controlled Trial of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells as Adjuvant Therapy in Group E COPD Patients. ClinicalTrials.gov . 2026. https://clinicaltrials.gov/study/NCT07441226

22. NCT05147688. Safety of Cultured Allogeneic Adult Umbilical Cord Derived Mesenchymal Stem Cells for Pulmonary Diseases. ClinicalTrials.gov . 2026.

23. Li Z, Wang Y, Li G, Ma N, Li M, Yuan F, et al. Clinical observation on the safety and efficacy of umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of bronchiolitis obliterans after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. Biotechnol Genet Eng Rev. 2023. doi:10.1080/02648725.2023.2183611

24. Mohseni R, Mahdavi Sharif P, Behfar M, Modaresi MR, Shirzadi R, Mardani M, et al. Evaluation of safety and efficacy of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in pediatric bronchiolitis obliterans syndrome (BoS) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). Stem Cell Res Ther. 2023;14(1):262. doi:10.1186/s13287-023-03498-y

5. Biomarqueurs pronostiques et prédictifs — ST2 et REG3α

25. Vander Lugt MT, Braun TM, Hanash S, et al. ST2 as a marker for risk of therapy-resistant graft-versus-host disease and death. N Engl J Med. 2013;369(6):529-539. doi:10.1056/NEJMoa1213299

26. Ferrara JLM, Harris AC, Greenson JK, et al. Regenerating islet-derived 3-alpha is a biomarker of gastrointestinal graft-versus-host disease. Blood. 2011;118(25):6702-6708. doi:10.1182/blood-2011-08-375766

27. Ponce DM, Hilden P, Mumaw C, et al. High day 28 ST2 levels predict for acute graft-versus-host disease and transplant-related mortality after cord blood transplantation. Blood. 2015;125(1):199-205. doi:10.1182/blood-2014-06-584789

28. Hartwell MJ, Ozbek U, Holler E, et al. An early-biomarker algorithm predicts lethal graft-versus-host disease and survival. JCI Insight. 2017;2(3):e89798. doi:10.1172/jci.insight.89798

29. Major-Monfried H, Renteria AS, Pawarode A, et al. MAGIC biomarkers predict long-term outcomes for steroid-resistant acute GVHD. Blood. 2018;131(25):2846-2855. doi:10.1182/blood-2018-02-831099

30. Paczesny S. Discovery and validation of graft-versus-host disease biomarkers. Blood. 2013;121(4):585-594. doi:10.1182/blood-2012-08-355990
31. Miśkiewicz-Migoń I. Analyse des biomarqueurs ST2, REG3α et sCD163 dans les complications post-allo-HSCT. Thèse de doctorat, Université de Médecine de Wrocław, 2024.
32. Levine JE, Braun TM, Harris AC, et al. A prognostic score for acute graft-versus-host disease based on biomarkers: a multicentre study. Lancet Haematol. 2015;2(1):e21-e29. doi:10.1016/S2352-3026(14)00032-4
33. Rowan CM, Smith LS, Loomis A, et al. ST2 and REG3α as biomarkers of transplant-related complications in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2022;57(5):739-746. doi:10.1038/s41409-022-01621-y

6. Qualité et standardisation des produits cellulaires

34. El Omar R, Beroud J, Stoltz JF, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells: the new gold standard for mesenchymal stem cell-based therapies? Tissue Eng Part B Rev. 2014;20(6):523-544. doi:10.1089/ten.teb.2013.0664
35. Choudhery MS, Badowski M, Muise A, Harris DT. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from neonatal, juvenile, and adult sources. Stem Cell Rev Rep. 2013;9(5):695-706. doi:10.1007/s12015-013-9458-5
36. Viswanathan S, Shi Y, Galipeau J, et al. Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT®) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature. Cytotherapy. 2019;21(10):1019-1024. doi:10.1016/j.jcyt.2019.08.002
37. European Medicines Agency. Guideline on human cell-based medicinal products. EMA/CAT/600280/2010 Rev. 1. 2022.

7. Méthodologie de développement des modèles prédictifs

38.Collins GS, Reitsma JB, Altman DG, Moons KGM. Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis Or Diagnosis (TRIPOD): the TRIPOD statement. Ann Intern Med. 2015;162(1):55-63. doi:10.7326/M14-0697

39.Moons KGM, Altman DG, Reitsma JB, et al. Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis Or Diagnosis (TRIPOD): Explanation and Elaboration. Ann Intern Med. 2015;162(1):W1-W73. doi:10.7326/M14-0698

8. Perspectives d'extension à d'autres pathologies

40.Hare JM, DiFede DL, Castellanos AM, et al. Randomized comparison of allogeneic vs. autologous mesenchymal stem cells for non-ischemic dilated cardiomyopathy: POSEIDON-DCM trial. J Am Coll Cardiol. 2017;69(5):526-537. doi:10.1016/j.jacc.2016.11.009

41.Freedman MS, Bar-Or A, Atkins HL, et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cell transplantation as a treatment for multiple sclerosis: consensus report of the International MSCT Study Group. Mult Scler. 2010;16(4):503-510. doi:10.1177/1352458509359723

42.Koh YG, Jo SB, Kwon OR, et al. Mesenchymal stem cell injections improve symptoms of knee osteoarthritis. Arthroscopy. 2013;29(4):748-755. doi:10.1016/j.arthro.2012.11.017

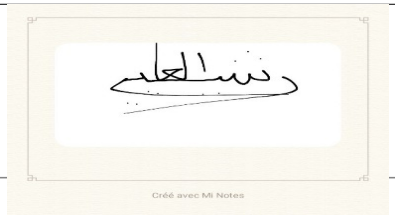
43.Semedo P, Correa-Costa M, Cenedeze MA, et al. Mesenchymal stem cells attenuate renal fibrosis through immune modulation and remodeling properties in a rat remnant kidney model. Stem Cells. 2009;27(12):3063-3073. doi:10.1002/stem.214

44.Zhao M, et al. The safety and efficacy of human umbilical cord mesenchymal stem cell for acute respiratory distress syndrome: an open-label and multicenter phase 1 clinical trial. Front Immunol. 2026. doi:10.3389/fimmu.2026.1848989

45.Liu J, et al. Clinical investigation on nebulized human umbilical cord MSC-derived extracellular vesicles for pulmonary fibrosis treatment. ProteomeXchange PXD063385. 2025.

Récapitulatif des grandes catégories thématiques

Thématique	Nombre de références
Contexte épidémiologique et clinique	8 références [1-8]
Biologie des CSM et mécanismes d'action	6 références [9-14]
Modèles précliniques des CSM dans la BO	3 références [15-17]
Essais cliniques des CSM dans les pathologies pulmonaires	7 références [18-24]
Biomarqueurs ST2 et REG3α	9 références [25-33]
Qualité et standardisation des produits cellulaires	4 références [34-37]
Méthodologie des modèles prédictifs (TRIPOD)	2 références [38-39]
Perspectives d'extension à d'autres pathologies	6 références [40-45]
Total	**45 références**

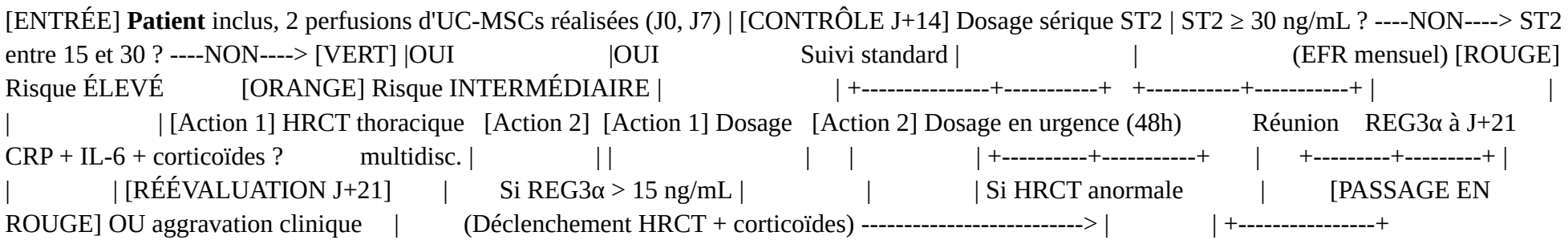


Supplément :

Matrice decisionnelle par niveau de risque +--------+----------+----------+ | Niveau | Statut | Seuil predictif | Decision clinique associee | | | (ST2 serique a J+14) | | +--------+----------+----------+ | Vert | Risque faible | < 15 ng/mL | Surveillance standard. Maintenir | | | | le protocole en cours. Aucune | | | | action invasive supplementaire. | +--------+----------+----------+ | Orange | Vigilance renforcee | 15 - 30 ng/mL | Declencher des examens | | | | complementaires non invasifs | | | | (CRP, dosage REG3alpha a J+21, | | | | IL-6). Rapprocher les | | | | consultations (tous les 7 jours). | +--------+----------+----------+ | Rouge | Intervention precoce | > 30 ng/mL | Scanner thoracique haute | | | | resolution (HRCT) dans les 48 h. | | | | Reunion multidisciplinaire. | | | | Discuter l'adaptation de | | | | l'immunosuppression et/ou une | | | | corticotherapie preventive. | +--------+----------+----------+ 2.7.2. Algorithmes par fenetre temporelle

BIOMARQUEURS SERIQUES ---------- Un panel de biomarqueurs sera dose dans le serum peripherique aux temps suivants : J0 (pre-traitement), J+7, J+14, J+21, J+30, J+90 et J+180. +----------+----------+----------+ | Biomarqueur | Role | Methode de dosage | +----------+----------+----------+ | ST2 | Marqueur predictif de GVHD et de reponse | ELISA (R&D Systems) | | | inflammatoire | | +----------+----------+----------+ | REG3alpha | Marqueur

de lesion epitheliale intestinale | ELISA (R&D Systems) | | | et pulmonaire | | +----------
+----------+----------+ | IL-6 | Cytokine pro-inflammatoire | Cytometrie en flux | | | | multiplex (Luminex) | +----------+----------
+----------+ | IL-10 | Cytokine anti-inflammatoire | Cytometrie en flux | | | | multiplex (Luminex) |
+----------+----------+----------+ | TNF-alpha | Cytokine pro-inflammatoire | Cytometrie en flux | | | | multiplex (Luminex) | +----------
+----------+----------+ | CRP ultrasensible | Marqueur d'inflammation systemique | Immunonephelometrie | +----------+----------
+----------+ 2.6. CRITERES DE JUGEMENT
---------- 2.6.1. Critere de jugement principal (composite a J180) Le patient est considere comme repondeur s'il remplit AU MOINS UN des trois criteres suivants : (a) Amelioration du VEMS > 10 % par rapport a l'inclusion (mesure en EFR post-bronchodilatateur) ; (b) Stabilite du VEMS (variation entre -5 % et +5 %) associee a une amelioration du DLCO > 15 % par rapport a l'inclusion ; (c) Reduction du score de dyspnee mMRC >= 1 point (sur l'echelle de 0 a 4) sans declin fonctionnel du VEMS > 5 %. Justification : Un critere composite permet de capturer differents aspects de la reponse clinique (obstruction, diffusion, symptomes) et d'augmenter la puissance statistique dans une pathologie ou le VEMS seul peut ne pas refleter l'ensemble du benefice therapeutique [21].



Algorithme clinique intégré (exploratoire)

Un algorithme décisionnel à trois niveaux de risque (vert, orange, rouge) est proposé **à titre exploratoire**, sur la base des seuils de ST2 et REG3α issus de la littérature [17,18]. **Les seuils seront recalibrés par analyse ROC sur les données de la cohorte de phase II** avant toute utilisation clinique effective.

2.7.1. Matrice décisionnelle par niveau de risque

Niveau	Statut	Seuil prédictif (ST2 sérique à J+14)	Décision clinique associée
Vert	Risque faible	< 15 ng/mL	Surveillance standard. Maintenir le protocole en cours. Aucune action invasive supplémentaire.
Orange	Vigilance renforcée	15 – 30 ng/mL	Déclencher des examens complémentaires non invasifs (CRP, dosage REG3α à J+21, IL-6). Rapprocher les consultations (tous les 7 jours).
Rouge	Intervention précoce	> 30 ng/mL	Scanner thoracique haute résolution (HRCT) dans les 48 h. Réunion multidisciplinaire. Discuter l'adaptation de l'immunosuppression et/ou une corticothérapie préventive.

2.7.2. Algorithmes par fenêtre temporelle

A. Phase de qualification du produit cellulaire (J-7) : décision d'administration

•**Étape 1.** Mesure de la viabilité cellulaire et du rendement (cellules viables/kg).
•**Étape 2.** Si viabilité < 85 % OU dose finale < $1{,}5\times10^{6}$ cellules viables/kg → **Alerte Rouge produit**.

•**Action :** Exclure le lot. Ne pas administrer. Utiliser un lot de secours.
•**Étape 3.** Si les seuils sont atteints → **Alerte Verte produit**. Le PTC est validé pour perfusion.

B. Phase de prise de greffe cellulaire (J+7 à J+21) : détection d'une inflammation systémique

•**Étape 1.** Dosage combiné du ST2 et du REG3α à J+14.
•**Étape 2.** Si ST2 > 30 ng/mL **ET** REG3α > 15 ng/mL à J+14 :

•**Action 1 (Imagerie)** : HRCT thoracique dans les 48 h ;
•**Action 2 (Traitement préventif)** : Discussion multidisciplinaire pour corticothérapie.
•**Étape 3.** Si seuils non atteints → Poursuite des dosages hebdomadaires (J+21, J+30).

C. Phase tardive (J+30 à J+90) : prédiction du déclin fonctionnel

•**Étape 1.** Mesure du rapport IL-10 / TNF-α (ratio protecteur si > 1,2).
•**Étape 2.** Si ratio < 1,2 **ET** antécédent d'alerte orange à J+14 :

•**Action 1 (Surveillance)** : EFR toutes les 2 semaines ;
•**Action 2 (Traitement)** : Discussion pour antifibrosant préventif.